Lane Medical Library

BEITRÄGE

zur

Kenntniss der Eiweisskörper

des Blutserums.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

DER

HOHEN MEDICINISCHEN FACULTÄT

DER

UNIVERSITÄT BERN

VORGELEGT VON

ROBERT BRUNNER

med. pract. v. Diessenhofen

in Thundorf.

1894.

Auf Antrag des Herrn *Prof. Drechsel* von der medicinischen Facultät zum Druck genehmigt.

BERN, den 7. März 1894.

Der Decan:
(sig.) *Strasser.*

Die Frage, welche Eiweisskörper im Blute des Menschen und der Säugethiere enthalten seien, gehört zu denjenigen, deren Beantwortung für den Mediciner, den Physiologen und den Chemiker von gleich hohem Interesse ist. Zahlreich sind daher auch die Untersuchungen, die sich mit derselben beschäftigen; und erst vor verhältnissmässig kurzer Zeit ist man dahin gelangt, mit Bestimmtheit gewisse Eiweisskörper als Bestandtheile des Blutes, sei es des Plasmas oder des Serums, nennen zu können, während früher die von verschiedenen Forschern erzielten Resultate häufig nur schwer mit einander in Einklang zu bringen waren.

Die Unterscheidung, genaue Charakteristik, und namentlich die vollkommene Trennung der einzelnen Eiweissstoffe des Blutes bietet ganz ausserordentliche Schwierigkeiten dar, welche man erst in neuerer Zeit zu überwinden gelernt hat.

Als Beispiel für diese Verhältnisse möchte ich hier nur das von verschiedenen Forschern beschriebene Casein anführen, welches angeblich im Serum enthalten sein sollte, und an die Mühe und Arbeit, die es gekostet hat, bis der Nachweis von der Identität dieses sog. Caseins mit dem Paraglobulin erbracht worden war.

Gegenwärtig ist man zu der Ansicht gelangt, dass im normalen Blutserum nur 2 Eiweisskörper enthalten sind:

Ein Albumin (Serumalbumin) und ein Globulin (Para- oder Serumglobulin), dass aber Glieder anderer Eiweissarten nicht darin vorhanden sind.

(Dabei wollen wir die auch schon aufgeworfene Frage, ob diese beiden Stoffe vielleicht Gemenge mehrerer einander äusserst ähnlicher Eiweisskörper seien, als noch nicht spruchreif ausser Acht lassen.)

Bei dieser Lage der Dinge musste es daher sehr überraschen, als Herr *Chabrié* der Pariser Akademie der Wissenschaften vor einiger Zeit die Mittheilung machte, er habe im Serum des menschlichen Blutes einen neuen Eiweisskörper gefunden, der kein Al-

bumin und auch kein Globulin sei, und den er als „Albumon“ bezeichnet.

Chabrié hat seine bezüglichen Untersuchungen im 113. Bande der „Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences“ vom Jahre 1891 veröffentlicht unter dem Titel: „Sur une nouvelle substance albuminoïde du sérum sanguin de l'homme.“

Die Bedeutung einer solchen Entdeckung wäre, falls sie sich als richtig herausstellen sollte, selbstverständlich eine sehr grosse. Daher müssen wir verlangen, dass dieselbe sicher begründet werde. Je leichter die Möglichkeit eines Irrthums ist, desto sorgfältiger müssen etwaige Quellen eines solchen aufgesucht und ausgeschlossen werden.

Herr Professor *Drechsel* war nun der Ansicht, dass sich gegen die Annahme von *Chabrié*, sein Albumon sei im Serum präformirt enthalten, gewisse Bedenken erheben liessen, und forderte mich deshalb auf, einige Versuche in dieser Hinsicht anzustellen, deren Resultate in den nachfolgenden Zeilen mitgetheilt werden sollen.

Um dem Leser eher ein eigenes Urteil zu ermöglichen, namentlich über die gegen die Ansicht von *Chabrié* zu erhebenden Bedenken, sei es mir gestattet, zunächst das Wesentliche aus der Abhandlung des genannten Autors der Beschreibung meiner eigenen Versuche vorauszuschicken.

Chabrié gibt folgende Darstellungsmethode für sein Albumon an:

„Das mit Essigsäure neutralisirte Serum wird zunächst im Wasserbade, dann bei 100 ° auf einem Ofen für langsames Eindampfen coagulirt. Die erhaltene Gallerte wird mit dem Platinmesser in kleine Stückchen geschnitten, dann mit der Hälfte des Volumens des angewandten Serums an Wasser versetzt, und das Ganze auf 100 ° erhitzt. Man darf das Wasser nicht vor der Coagulation des Serums zusetzen, da bekanntlich das Serumalbumin in verdünnter Lösung durch Hitze nicht coagulirt wird.

Die durch die letzte Operation erhaltene Masse wird erst durch Mousseline, dann durch Papier filtrirt. Man gewinnt so ein schwach trübes Filtrat, das auf Zusatz von 2—3 Volumina 89 % Alkohol sofort einen weissen, flockigen Niederschlag fallen lässt, welcher sich im Laufe einiger Stunden absetzt.

Dieser Niederschlag ist nach dem Abfiltriren und Trocknen an der Luft, in kaltem Wasser löslich und wird aus dieser Lösung durch Alkohol wieder gefällt.

Das so wieder gefällte Product enthält eine dem Albumin ähnliche, organische Substanz. Beim Erhitzen gibt es eine voluminöse Kohle und verbrennt unter Verbreitung des Geruchs von verbranntem Horn wie das gewöhnliche Albumin.

Es ist durch anorganische Salze verunreinigt; 0,1255 gr. desselben hinterlassen 0,0008 gr. Asche = 0,637 %. Diese Asche bestand aus Phosphaten. Die Abwesenheit von Chlor und Kalk wurde festgestellt."

Das Präparat ist durch folgende Reactionen gekennzeichnet:

1. Alkohol	Coagule.
2. Hitze	Ne coagule pas.
3. Hitze und Essigsäure	Ne coagule pas.
4. Salpetersäure	Coagule soluble dans un petit excès de réactif.
5. Ferrocyankal. und Essigsäure	Louche, qui augmente avec le temps.
6. Phosphorwolframsäure	Précipité.
7. Sublimat	Rien à froid et à chaud.
8. Mercurinitrat	Précipité, se rassemble mieux à chaud.
9. Millon's Reagens	Précipité blanc, devenant rose à chaud.
10. Biuret-Reaction	Rien. [1])
11. Natriumsulfat	Précipité blanc.
12. Magnesiumsulfat	Rien.

Chabrié hat also, um sein Verfahren zur Gewinnung des Albumons kurz zu recapituliren, die beiden bekannten Eiweisskörper des Blutserums, das Albumin und das Paraglobulin, durch Erhitzen aus dem neutralisirten Serum zu entfernen gesucht und dann in dem Serumreste durch Alkohol doch noch einen Eiweisskörper zu fällen vermocht. Daraus zieht er den Schluss, dass dieser Eiweisskörper, sein Albumon, im menschlichen Blutserum vorgebildet enthalten sei. Hiergegen lassen sich nun folgende Einwendungen machen:

---

[1]) Dieses „rien" soll wohl bedeuten, dass die Flüssigkeit nicht roth wird, sondern blau; s. u. die Tabelle.

1. *Chabrié* verlangt, dass das Serum „neutralisirt“ werde, bevor es zur Coagulation erhitzt wird.

Diese Vorschrift ist mindestens ungenau; denn bekanntlich enthält das Serum kohlensaures Alkali, welches auf Zusatz von wenig Essigsäure bis zur neutralen Reaction auf Lakmus in neutral reagirendes Bicarbonat übergeht. Wird dessen Lösung dann erhitzt, so entweicht Kohlensäure und es entsteht wieder kohlensaures Alkali, das alkalisch reagirt.

Um daher eine auch nach dem Erhitzen noch neutrale Flüssigkeit zu bekommen, muss man das Serum ursprünglich schwach sauer machen, respective die zuzusetzende Menge Essigsäure genau ausprobiren.

2. Bei der Coagulation einer natürlichen Eiweisslösung, wie Serum, durch Hitze wird die Flüssigkeit stärker alkalisch, offenbar weil ein Theil ursprünglich an Eiweiss gebundenen Alkalis bei der Coagulation von diesem abgespalten wird, in Lösung geht und so die Coagulation eines andern Theils Eiweiss verhindert.

3. Es ist eine bekannte Thatsache, dass eine möglichst vollständige Ausscheidung von Albumin und Paraglobulin durch Coagulation in der Hitze nur dann erfolgt, wenn die Flüssigkeit bei und nach dem Kochen vollkommen neutral oder ganz schwach sauer ist; andernfalls bleibt immer etwas Eiweiss in Lösung.

4. Für einige Eiweissstoffe, z. B. für das Fibrinogen von *Hammarsten*, ist nachgewiesen, dass bei der Coagulation derselben durch Hitze eine Spaltung in einen unlöslichen und einen löslichen Körper eintritt.

Berücksichtigt man diese Thatsachen, so gelangt man nothwendig zu der Ansicht, dass das Albumon von *Chabrié* sehr wohl ein Zersetzungsprodukt der bekannten Eiweisskörper des Blutserums sein kann, und dass die Annahme von *Chabrié*, das Albumon sei ein ursprünglicher Bestandtheil des Blutserums, durchaus nicht genügend erwiesen ist.

Ich gehe nun zur Beschreibung meiner eigenen Versuche über.

Zunächst handelte es sich darum, eine genügende Quantität Serum zu erhalten.

Es wurden daher etwa 10 Liter Rinderblut frisch von der Ader weg in einem grossen, völlig trockenen Becherglase aufge-

fangen, und nach vollendeter spontaner Gerinnung, das noch reichlich rothe Blutkörperchen enthaltende Serum vom Coagulum abgegossen. Dieses Serum wurde nun durch Centrifugiren von den verunreinigenden Blutkörperchen befreit; und zwar wurde jede Portion 2 Mal je 2 Stunden lang centrifugirt, so dass schliesslich ein schön klares, schwach röthlich-gelb gefärbtes Serum von stark alkalischer Reaction erhalten wurde. Die Menge desselben betrug $2^1/_2$ Liter.

(Es wurde Rinderblut, nicht Menschenblut, verwendet, weil nach den Angaben von *Chabrié* aus 1200 Theilen Blut nur 1 Theil Albumon gewonnen werden kann. Solche Quantitäten Menschenblutes aber, wie zu meinen Untersuchungen nöthig gewesen wären, hätte ich mir auf keine Weise verschaffen können.)

Meine Aufgabe bestand nun darin:

1) Aus dem einen Theile dieses Serums möglichst genau nach den Angaben von *Chabrié* das Albumon darzustellen und zu prüfen, ob dieses Rinderblut-Albumon mit dem Menschenblut-Albumon von *Chabrié* übereinstimme.
2) Aus dem andern Theile desselben Serums das Albumin und das Paraglobulin nach bekannten Methoden, bei denen aber eine Mitfällung von Albumon ausgeschlossen war, möglichst rein und vollständig abzuscheiden und dann die Mutterlauge auf das Vorhandensein von Albumon zu untersuchen.
3) Die reinen Eiweissstoffe Albumin und Paraglobulin nach der Methode von *Chabrié* zu behandeln, um zu sehen, ob sich hiebei Albumon bilde oder nicht.

---

1. Darstellung des Albumons aus Rinderblutserum nach der Methode von Chabrié.

1250 cm^3 Serum werden mit Essigsäure neutralisirt, im Wasserbade coagulirt und dann in einem Sterilisations-Ofen $^1/_2$ Stunde lang einer Temperatur von 100° ausgesetzt. Die so erhaltene steife Gallerte wird in kleine Stücke geschnitten, mit 625 cm^3 destillirten Wassers versetzt und nochmals $^1/_2$ Stunde lang im Ofen auf 100° erhitzt. Hierauf wird zunächst durch

Mousseline, dann durch Papier filtrirt. Es resultirt nun eine blassgelbe, neutrale, leicht trübe und opalescirende Flüssigkeit, die nun mit 2—3 Volumina Alkohol versetzt wird. Es zeigt sich sofort eine weissliche Trübung, die sich allmälig zu feinen Flocken zusammenballt und zu Boden setzt. Nach einigen Stunden wird dieser Niederschlag abcentrifugirt und dann wieder in Wasser aufzulösen gesucht. Eine klare Lösung konnte aber nicht erhalten werden, sondern nur eine Art Emulsion. Es wurde daher versucht, die unlöslichen Bestandtheile abzufiltriren. Dies misslang aber; ebenso auch ein Versuch mit Centrifugiren.

Es erinnnert dieses Verhalten an das ganz ähnliche solcher Flüssigkeiten, aus denen das Eiweiss durch Kochen nur schlecht ausgefällt ist. Da in solchen Fällen ein erneutes Aufkochen unter Zusatz einer Spur Essigsäure sich häufig als sehr wirksam erweist, so versuchte ich dieses Mittel auch bei meiner Lösung. Ich versetzte dieselbe mit Essigsäure bis zur schwach sauren Reaction und erhitzte dann im Wasserbade. Der sich bald zeigende Niederschlag wurd abfiltrirt und die nun klar gewordene Flüssigkeit mit Alkohol versetzt. Das sich in weissen Flocken abscheidende Albumon wurde nach Verlauf mehrerer Stunden abcentrifugirt, zu wiederholten Malen mit absolutem Alkohol und zuletzt mit Aether ausgewaschen und dann im Exsiccator über Schwefelsäure getrocknet. Auf diese Weise erhielt ich das Albumon als schön weisses Pulver.

Der Grund, warum das ein Mal mit Alkohol ausgefällte Albumon sich im Wasser nicht vollständig löste, liegt also darin, dass es noch mit Alkali-Albuminat verunreinigt war, welches sich beim Erhitzen des Serums aus dem Paraglobulin und dem Albumin gebildet hatte und aus der nur neutralisirten Flüssigkeit durch das Erhitzen nicht vollständig ausgeschieden worden war. Dass dies der Fall, beweist eine genauere Untersuchung der Mutterlauge des Albumons vor deren Versetzung mit Alkohol. Erhitzt man nämlich eine Probe derselben nach schwacher Ansäuerung mit Essigsäure, so erhält man einen Niederschlag. Da das Albumon aber durch Erhitzen in essigsaurer Lösung nicht gefällt wird, so kann dieser Niederschlag nur aus Albuminat, bezüglich den bekannten Serum-Eiweisskörpern, Albumin und Paraglobulin, durch Coagulation, wie oben ausgeführt, entstehen.

2. Abscheidung und Reindarstellung des Paraglobulins und Albumins.

Durch die vortrefflichen Arbeiten von *Olaf Hammarsten* wissen wir, dass uns in der schwefelsauren Magnesia ein sicheres Mittel gegeben ist, um aus einer Eiweisslösung alle Globuline vollständig und ohne Veränderung ihrer Eigenschaften auszufällen.

Da nun nach *Chabrié* das Menschenblut-Albumon durch Mg SO_4 nicht gefällt wird, was ich nach meinen Untersuchungen auch für das Rinderblut-Albumon bestätigen kann, so konnte ohne Bedenken die *Hammarsten*'sche Mg SO_4-Methode zur Ausfällung und Reindarstellung des Paraglobulins aus dem Serum verwendet werden.

Es wurde also die zweite Hälfte meines Serum bei 30° mit Mg SO_4 in Substanz gesättigt und das sich abscheidende Paraglobulin im Wasserbadtrichter bei 30° abfiltrirt. Das Filtrat, das vorher noch genau auf Abwesenheit von Paraglobulin mittelst nochmaliger Eintragung von Mg SO_4 geprüft worden war, wurde nun vorsichtig mit nicht ganz 1 % Essigsäure versetzt, um auch das Albumin auszuscheiden.

Es durfte die Methode mit Essigsäure ohne Bedenken zur Anwendung kommen, da eine Voruntersuchung mit dem Rinderblut-Albumon ergeben hatte, dass dessen Lösung durch Sättigung mit Mg SO_4 und Zusatz von etwas Essigsäure nicht im Geringsten gefällt wird.

Das ausgefällte Albumin wurde abfiltrirt und das Filtrat, welches nun das von Paraglobulin und Albumin befreite Serum, den Serumrest, darstellt, zu späterer Untersuchung aufgehoben.

Das Albumin wurde hierauf wieder in Wasser aufgelöst, zum zweiten Male mit Essigsäure gefällt und abfiltrirt. Schliesslich wurde dasselbe zwischen Filtrirpapier von noch anhaftender Mutterlauge abgepresst, dann in möglichst wenig Wasser, unter genauer Neutralisation der Essigsäure mit verdünnter Sodalösung, aufgelöst und in den Dialysator gebracht, um es von dem massenhaft beigemengten Mg SO_4 zu befreien.

Das Paraglobulin, das mit Mg SO_4 direct aus dem Serum gefällt und im Wasserbadtrichter bei 30° abfiltrirt worden war,

wurde wieder in Wasser gelöst und zum zweiten Mal mit $MgSO_4$ gefällt: ebenso wurde noch ein drittes Mal verfahren.

Hierauf wurde dasselbe, noch während es sich auf dem Wasserbadtrichter befand, so lange mit bei 30° gesättigter $MgSO_4$-Lösung ausgewaschen, bis sich in der abfliessenden Waschflüssigkeit kein Eiweiss mehr nachweisen liess.

Dann wurde das so gereinigte Paraglobulin in möglichst wenig Wasser gelöst und in den Dialysator gebracht, um es auch noch von dem eingeschlossenen $MgSO_4$ zu befreien.

Der Serumrest, d. h. das von Paraglobulin und Albumin befreite Serum, war eine vollkommen wasserklare Flüssigkeit, die aber doch bei längerem Kochen noch einzelne ganz feine Fädchen von coagulirtem Albumin erkennen liess. Diese Albumin-Spuren konnten auch durch weitern Zusatz von Essigsäure vorläufig nicht herausgebracht werden.

Daher wurde die Flüssigkeit zunächst auf dem Wasserbade bei 30—40° unter Ueberleiten eines kräftigen Stromes trockener Luft allmälig auf ein geringeres Volumen eingeengt, wobei das sich abscheidende $MgSO_4$ von Zeit zu Zeit abgesaugt wurde.

Aus dieser nun viel concentrirteren Albumin-Lösung gelang es dann, durch Zusatz von noch etwas Essigsäure auch die letzten Spuren von Albumin vollständig zu entfernen, so dass die Flüssigkeit nun zur Enfernung des $MgSO_4$ in den Dialysator gebracht werden konnte, nachdem vorher noch die Essigsäure neutralisirt worden war.

Nach beendeter Dialyse wurde eine Probe der Flüssigkeit durch Versetzen mit 2—3 Volumina Alkohol auf Albumon geprüft. Es zeigte sich aber auch nach mehrstündigem Stehen keine Spur einer Fällung.

Wurden einige Tropfen auf dem Platinblech erhitzt, so konnte man nur eine gräuliche Verfärbung der trockenen Masse constatiren, während Geruch nach verbranntem Horn gar nicht wahrzunehmen war. Die Flüssigkeit enthielt also jedenfalls nur sehr geringe Mengen organischer Substanzen.

Da also auf diese Weise die Existenz von Albumon im Serumreste nicht nachgewiesen werden konnte, so wurde derselbe noch weiter eingedampft, in der Meinung, etwa vorhandenes Al-

bumon in dieser viel stärkeren Concentration eher mit Alhohol ausfällen zu können. In der That erzeugte auch jetzt Zusatz von Alkohol einen Niederschlag.

Derselbe erwies sich aber sowohl bei makroskopischer, als mikroskopischer Betrachtung als krystallisirte, schwefelsaure Magnesia, welche durch die Dialyse nicht vollständig entfernt worden war.

Der Niederschlag wurde gleichwohl abcentrifugirt, mit Alkohol und Aether gewaschen und in den Exsiccator gebracht. Denn wenn im Serumreste wirklich Albumon existirt, so musste dasselbe in diesem Alkohol-Niederschlage enthalten sein.

Eine Probe des getrockneten Niederschlages, in einem zugeschmolzenen Röhrchen erhitzt, liess eine ganz schwach grauliche Verfärbung erkennen und zeigte dabei einen etwas unangenehmen, keineswegs aber den für Eiweisskörper charakteristischen Geruch nach verbrannten Haaren oder Federn. Auch in diesem Alkohol-Niederschlage konnte also keine organische Substanz in messbarer Menge nachgewiesen werden; die chemische Untersuchung zeigte vielmehr, dass der Niederschlag fast gänzlich aus anorganischer Substanz, nämlich aus $Mg\ SO_4$, bestand.

Wenn aber überhaupt im Blutserum das Albumon vorgebildet existirt, so müsste dasselbe in diesem „Serumreste“ nachzuweisen sein. Denn es konnte weder bei der Ausfällung des Paraglobulins mit $Mg\ SO_4$, noch bei derjenigen des Albumins mit Essigsäure mit ausgefallen sein, indem eine Albumon-Lösung weder durch $Mg\ SO_4$ allein, noch durch $Mg\ SO_4$ + Essigsäure gefällt werden kann.

Ich glaube deshalb bewiesen zu haben, dass Rinderblutserum, das durch geeignete Methoden, als welche die einfache Coagulation durch Hitze aber nicht angesehen werden kann, vollständig von Paraglobulin und Albumin befreit worden ist, absolut kein Albumon enthält.

Wenn aber *Chabrié* durch Kochen des Serums und nach Abfiltriren der Gerinnsel aus seinem Serumreste doch Albumon gewinnen kann, so ist dies nur dadurch möglich, dass sich das Albumon bei der Coagulation aus den beiden schon lange bekannten Eiweisskörpern des Blutserums, dem Paraglobulin und Albumin, abgespalten hat.

Dies zu beweisen, ist der Zweck der folgenden Untersuchungen. Bevor ich aber auf diese letzteren eingehe, möchte ich noch einem Einwande begegnen, der gegen meine eben beschriebenen Versuche gemacht werden könnte.

Ich habe nämlich oben die Behauptung aufgestellt, das etwa im Serum vorgebildete Albumon könne weder bei der Ausfällung des Paraglobulins mit Mg SO_4, noch bei derjenigen des Albumins mit Mg SO_4 + Essigsäure mit ausgefallen sein.

Dass eine reine Albumon-Lösung weder durch Mg SO_4 allein, noch durch Mg SO_4 + Essigsäure gefällt werden kann, habe ich allerdings schon früher bei meinen Voruntersuchungen über das Albumon mit Sicherheit constatirt.

Dass aber eine mit Paraglobulin, Albumin und den Serumsalzen verunreinigte Albumon-Lösung, wie das Serum nach *Chabrié* ja darstellen soll, dadurch ebenfalls nicht gefällt wird, diesen Beweis habe ich noch zu erbringen.

Es handelt sich dabei darum, den Nachweis zu liefern, dass dem Serum vorher absichtlich zugesetztes Albumon auch nach Ausfällung des Paraglobulins und Albumins durch die von mir angewandten Methoden im Serumreste wiederzufinden ist.

Dieser Versuch wurde in folgender Weise ausgeführt:

Nachdem aus 250 cm^3 centrifugirtem Rinderblutserum Albumon nach *Chabrié* dargestellt worden war, wurde dasselbe in 250 cm^3 frischen Rinderserums aufgelöst.

Das so mit Albumon versetzte Serum wurde nun bei 30° C. mit Mg SO_4 in Substanz gesättigt, der Paraglobulin-Niederschlag im Wasserbadtrichter bei 30° C. abfiltrirt und mit bei dieser Temperatur gesättigter Mg SO_4-Lösung ausgewaschen.

Das Filtrat, zusammen mit dem abfliessenden Waschwasser, wurde hierauf vorsichtig mit Essigsäure versetzt, bis kein Niederschlag mehr entstand. Nach Abfiltriren dieses Albumin-Niederschlages wurde das Filtrat bei 30° C. unter Ueberleiten eines Stromes trockener Luft eingeengt.

Von dem dabei entstandenen Niederschlage von Mg SO_4 wurde abfiltrirt und das Filtrat der Kälte ausgesetzt. Nachdem dadurch ein grosser Theil des Mg SO_4 ausgefroren war, kam das Filtrat in den Dialysator.

So gelang es schliesslich, fast sämmtliches $MgSO_4$ zu entfernen. Die Untersuchung der restierenden Flüssigkeit, des Serumrestes, ergab nun, dass dieselbe noch sämmtliche Reactionen des Albumons von *Chabrié* zeigte, während von Albumin und Paraglobulin keine Spur mehr nachzuweisen war.

Damit erachte ich die Zulässigkeit der angewandten Methoden der Ausfällung des Paraglobulins und Albumins bei meinen Versuchen als erwiesen und gehe nun zur Besprechung des Folgenden über.

3. Behandlung des reinen Albumins und Paraglobulins nach der Methode von Chabrié.

Nach beendeter Dialyse wird sowohl die Paraglobulin- als die Albumin-Lösung im Wasserbade bei 30—40° unter Ueberleiten eines Stromes trockener Luft soweit concentrirt, bis eine Probe ihrer Lösungen sich beim Kochen so verhält wie Blutserum, d. h. zu einer dicken Gallerte erstarrt.

Jetzt sollen beide Lösungen ganz in derselben Weise behandelt werden, wie das Serum behandelt wurde, um nach *Chabrié*'s Methode Albumon darzustellen.

Zunächst aber wird noch beiden Lösungen je 1% Na Cl und 1% Natr. acetic. zugesetzt, um den durch die Dialyse erlittenen Salzverlust zu ersetzen und den beiden Lösungen einen Salzgehalt zu geben, der demjenigen des nach *Chabrié* behandelten Blutserums ungefähr entspricht. Dabei löst sich das bei der Dialyse zum grossen Teil ausgeschiedene Paraglobulin wieder auf.

Jetzt wurden die Lösungen der Methode von *Chabrié* unterworfen. Beide wurden also, jede für sich, auf dem Wasserbade erhitzt, und dann im Sterilisations-Ofen eine halbe Stunde lang einer Temperatur von 100° ausgesetzt. Hierauf schnitt man die Coagula in kleine Stücke, setzte die Hälfte des Volumens destillirtes Wasser zu und erhitzte nochmals eine halbe Stunde lang im Ofen auf 100°.

Darnach wurden beide Flüssigkeiten zunächst durch Mousseline, dann durch Papier filtrirt.

Man erhielt auf diese Weise zwei leicht gelblich gefärbte, etwas trübe und opalescirende Filtrate.

Beide gaben nach Ansäuerung mit Essigsäure beim Kochen noch einen geringen Niederschlag als Beweis dafür, dass sowohl Albumin als Paraglobulin aus ihren neutralen Lösungen durch blosses Erhitzen nicht vollständig ausgefällt werden können.

Nach Abfiltriren dieser Niederschläge wurden nun beide Flüssigkeiten mit 2—3 Volumina Alkohol versetzt, wodurch in beiden sofort eine weissliche Trübung erzeugt wurde, die nach Ablauf mehrerer Stunden als feinflockiger Niederschlag sich absetzte. Die feinen weissen Flöckchen ballten sich dann allmälig zu grössern, lockeren Flocken zusammen. Dieselben wurden nun abcentrifugirt, wieder in Wasser gelöst und zum zweiten Male mit Alkohol gefällt.

Nach mehrstündigem Stehen unter letzterem wurden die Niederschläge wieder abcentrifugirt, mehrmals mit reinem Alkohol und zuletzt noch mit Aether gewaschen und dann in den Exsiccator gestellt. Nach völliger Austrocknung waren beide Niederschläge zu rein weissen Pulvern geworden.

Der Exsiccator beherbergt nun folgende 3 Präparate:

1. Einen Eiweisskörper, gewonnen direct aus Rinderblutserum nach der Methode von *Chabrié*. Wir wollen diesen Körper „Serum-Albumon“ nennen.
2. Einen Eiweisskörper, dargestellt aus Rinderblut-Albumin, ebenfalls nach der Methode von *Chabrié*. Wir nennen ihn „Albumin-Albumon.“
3. Einen Eiweisskörper, dargestellt aus Rinderblut-Paraglobulin, auch nach der Methode von *Chabrié*. Wir nennen ihn „Paraglobulin-Albumon.“

Es sind nun alle 3 Substanzen unter sich sowohl, als auch mit dem Albumon aus menschlichem Blutserum nach *Chabrié* zu vergleichen.

Wir haben unsere bezüglichen Untersuchungsergebnisse in die folgende Tabelle geordnet:

Reagens	Menschenblut-Albumon v. Chabrié	Rinderblut-Serum-Albumon	Rinderblut-Albumin-Albumon	Rinderblut-Paraglobulin-Albumon
Alkohol.	Niederschlag.	Niederschlag.	Niederschlag.	Niederschlag.
Hitze.	Kein Niederschlag.	Kein Niederschlag.	Kein Niederschlag.	Kein Niederschlag.
Hitze+Essigsäure	Kein Niederschlag.	Kein Niederschlag.	Kein Niederschlag.	Kein Niederschlag.
Salpetersäure.	Niederschlag, löslich i. Ueberschuss d. Reag.	Niederschlag, löslich i. Ueberschuss d. Reag.	Niederschlag, löslich i. Ueberschuss d. Reag.	Niederschlag, löslich i. Ueberschuss d. Reag.
Ferrocyankal. + Essigsäure.	Trübung, die mit der Zeit zunimmt.	Trübung, die mit der Zeit zunimmt.	Trübung, die mit der Zeit zunimmt.	Trübung, die mit der Zeit zunimmt.
Phosphor-wolframsäure.	Niederschlag.	Niederschlag.	Niederschlag.	Niederschlag.
Sublimat.	Kein Niederschlag.	Kein Niederschlag.	Kein Niederschlag.	Schwache Trübung.
Mercurinitrat.	Niederschlag.	Niederschlag.	Niederschlag.	Niederschlag.
Millon's Reag.	Weisser Niederschlag, beim Erhitzen rosa.	Weisser Niederschlag, beim Erhitzen rosa.	Weisser Niederschlag, beim Erhitzen rosa.	Weisser Niederschlag, beim Erhitzen rosa.
Biuret-React.	Nichts.	Schwach blau-violette Färbung.	Schwach blau-violette Färbung.	Schwach blau-violette Färbung.
$Na_2 SO_4$.	Niederschlag.	Kein Niederschlag.	Kein Niederschlag.	Schwache Trübung.
$Mg SO_4$.	Kein Niederschlag.	Kein Niederschlag.	Kein Niederschlag.	Kein Niederschlag.

Die Tabelle zeigt die fast vollständige Uebereinstimmung der Reactionen des Albumons von *Chabrié* aus menschlichem Blutserum und desjenigen aus Rinderblutserum. Die einzige Abweichung besteht darin, dass ersteres durch $Na_2\ SO_4$ gefällt wird, letzteres nicht. Als wesentlich dürfte dieser Unterschied indessen kaum zu betrachten sein; denn

1. ist die Uebereinstimmung in den übrigen Reactionen eine so vollständige, als man es bei der Vergleichung von eigenen Beobachtungen mit der Beschreibung der Versuche Anderer nur erwarten kann, und

2. ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass der von *Chabrié* beobachtete Niederschlag mit $Na_2\ SO_4$ gar nicht dem Albumon selbst, sondern einer Verunreinigung desselben angehört, die durch das abermalige Erhitzen unter Zusatz von etwas Essigsäure aus meinem Präparate entfernt worden war. Endlich könnte auch der Umstand noch in Betracht kommen, dass die Eiweisskörper des Rinderblutserums mit denen des menschlichen Serums vielleicht nicht absolut identisch sind, und diese Verschiedenheit auch in den daraus hervorgegangenen Albumonen noch fortbesteht.

Jedenfalls aber halte ich es für bewiesen, dass der Eiweisskörper, den ich unter dem Namen „Serum-Albumon" beschrieben habe, für Rinderblut ganz dasselbe darstellt, wie das Albumon von *Chabrié* für menschliches Blut.

Was nun das Albumin-Albumon und das Paraglobulin-Albumon anbetrifft, so sieht man, dass dieselben ihrerseits mit dem direct aus Rinderblutserum dargestellten „Serum-Albumon" fast vollkommen übereinstimmen.

Das Albumin-Albumon verhält sich vollständig so wie das Serum-Albumon.

Dagegen zeigt das Paraglobulin-Albumon zwei kleine Differenzen. Während nämlich Serum-Albumon und Albumin-Albumon durch Sublimat gar nicht gefällt werden, gibt die Lösung des Paraglobulin-Albumons einen ganz geringen Niederschlag. Ferner fällt sowohl Serum-Albumon als Albumin-Albumon nicht durch $Na_2\ SO_4$; die Lösung des Paraglobulin-Albumons dagegen wird etwas getrübt.

Beide Differenzen betreffen also das Paraglobulin-Albumon.

Dasselbe war jedenfalls das am wenigsten reine meiner Präparate, und ich führe dies darauf zurück, dass dasselbe kürzere Zeit unter Alkohol gestanden hatte, als die andern beiden. So konnte es geschehen, dass etwa mit Alkohol ausgefälltes ursprüngliches Paraglobulin in der zu kurzen Zeit des Stehens unter Alkohol nicht vollständig unlöslich werden konnte und dann in die wässerige Lösung des Paraglobulin-Albumons überging.

Die Thatsache, dass gerade das wahrscheinlich am wenigsten reine meiner Präparate durch Na_2 SO_4 in seiner Lösung getrübt wird, ist um so interessanter, als es gerade in dieser Hinsicht mit dem Albumon von *Chabrié* vollständig übereinstimmt. Dadurch gewinnt meine schon ausgesprochene Vermuthung, es möchte der von *Chabrié* bei seiner Albumon-Lösung beobachtete Niederschlag durch Na_2 SO_4 von einer Verunreinigung seines Albumons herrühren, an Wahrscheinlichkeit.

Dass meine drei Albumon-Präparate unter einander identisch sein müssen, kann keinem Zweifel unterliegen, da sie ja alle demselben Materiale entstammen.

Auf welche Art und Weise aber das Albumon aus dem Albumin und dem Paraglobulin entsteht, lässt sich mit Sicherheit zur Zeit nicht angeben.

Die Thatsache, dass bei der Gerinnung nativer Eiweisslösungen durch Erhitzen etwas Alkali frei wird, sowie die weitere, dass man, um die Fällung des Eiweiss durch Kochen möglichst vollständig zu machen, die ursprünglich alkalische Flüssigkeit nicht bloss neutralisiren, sondern ganz schwach, aber deutlich sauer machen muss, — diese Thatsachen scheinen mir darauf hinzudeuten, dass das Albumon durch die Einwirkung von Hitze und Alkali zusammen auf Eiweiss entsteht, neben oder aus Albuminat, dem schon lange bekannten Producte der Einwirkung von Alkalien auf Eiweiss. Dies noch näher zu untersuchen, fehlte es mir an Zeit. Zu welchem Resultate aber auch eine solche Untersuchung führen mag, so geht doch schon aus meinen oben mitgetheilten Versuchen zweifellos hervor, dass das sogenannte Albumon nicht im Blutserum vorgebildet enthalten ist, sondern dass es ein Kunstproduct darstellt.

Die Resultate meiner Untersuchungen lassen sich kurz in folgende Sätze zusammenfassen:

1. Der Eiweisskörper, den *Chabrié* aus menschlichem Blutserum dargestellt und unter dem Namen „Albumon“ beschrieben hat, kann auch aus Rinderblutserum dargestellt werden.
2. Das Albumon aus Rinderblutserum ist nicht als solches im Serum vorgebildet enthalten, sondern
3. dasselbe entsteht bei der Coagulation des Serums durch Hitze aus den beiden schon lange bekannten Eiweisskörpern des Serums, dem Albumin und Paraglobulin, als Spaltungsproduct.

Da aber das Albumon aus Rinderblutserum vollständig übereinstimmt mit dem Albumon aus menschlichem Blutserum, so ist es höchst wahrscheinlich, dass auch das Albumon aus menschlichem Blutserum nicht in demselben vorgebildet enthalten ist, sondern vielmehr bei der Coagulation nach der Methode von *Chabrié* aus dem Albumin und dem Paraglobulin als Spaltungsproduct entsteht.

Schweiz. Verlags-Druckerei, Basel